

Aus der Kinderklinik und Poliklinik
der Freien Universität Berlin

(Kaiserin-Auguste-Victoria-Haus)

Direktor: Professor Dr. med. Adalbert L o e s c h k e

KREUZPROBE BEI SÄUGLINGEN

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Siegfried Röhlig

aus Chemnitz

1964

Aus der Kinderklinik und Poliklinik
der Freien Universität Berlin

(Kaiserin-Auguste-Victoria-Haus)

Direktor: Professor Dr. med. Adalbert L o e s c h k e

KREUZPROBE BEI SÄUGLINGEN

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Siegfried Röhlig

aus Chemnitz

Dekan: Professor Dr. med. Adalbert L o e s c h k e

Referent: Professor Dr. med. Leonore B a l l o w i t z

Korreferent: Professor Dr. med. Adalbert L o e s c h k e

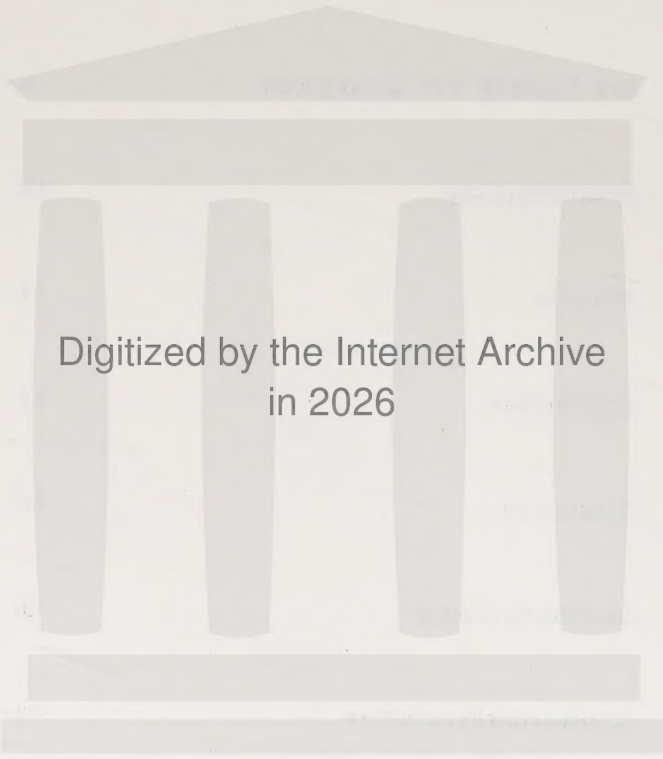


Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 12. November 1964

Inhaltsverzeichnis:

Einleitung	1
Zur Technik der Kreuzprobe	6
Fragestellung	10
Methode	11
Ergebnisse	14
Diskussion	22
Zusammenfassung	26
Literaturverzeichnis	28



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Einleitung

Vor jeder Blutübertragung muß, so schreiben es die "Richtlinien für die Einrichtung des Blutspendewesen" vor, eine serologische Verträglichkeitsprobe ausgeführt werden. Mit dieser Probe sollten alle Unverträglichkeiten, die durch reguläre und irreguläre Blutgruppenantikörper entstehen können, aufgedeckt werden. Benötigen Säuglinge eine Blutübertragung, so ergeben sich bei der Durchführung der Kreuzprobe einige Besonderheiten, die mit der ontogenetischen Entwicklung der Blutgruppen- und Blutfaktorenantigene und mit der erst im 2. Trimenon einsetzenden Bildung von regulären Haemagglutininen im Zusammenhang stehen. Auf diese Entwicklungsvorgänge soll zunächst kurz eingegangen werden.

Die Blutgruppeneigenschaften A, B und O der zukünftigen Individuen werden auf Grund ihrer Vererbbarkeit im Augenblick der Konzeption festgelegt. Die gruppenspezifische Prägung der Blutkörperchen erfolgt während der foetalen Entwicklung. So wies KEMP bereits bei einer 37 Tage alten Frucht Blutgruppenrezeptoren nach. BLUMENTHAL, GILLERT und WULKOW fanden frühestens bei einem zwei Monate alten (ca 4 cm langem) Foetus Rezeptoren. Sie gelangten ebenso wie WILDHAGEN und KRAH zu der Feststellung, daß die ABO-Blutgruppenverteilung der Foeten vom ersten nachweisbaren Stadium der normalen Gruppierung der Erwachsenen entspricht. Die von SANDER vertretene Auffassung, wonach bei allen Foeten der jüngsten Gestationsmonate generell die Blutgruppenrezeptoren AB zu finden sind, muß auf eine fehlerhafte Technik bei der Bestimmung zurückgeführt werden (BLUMENTHAL u.a.).

Die Stärke der ABO-Rezeptoren zeigt eine Abhängigkeit vom Lebensalter. Bei Foeten, Neugeborenen und bei jungen Säuglingen ist das Antikörperbindungsvermögen niedriger, als bei jugendlichen Erwachsenen (THOMMSEN, MORVILLE, KEMP, WITEBSKY, CRAWFORD, SEELEN, KIRK, SPEISER).

Die Ergebnisse von Untersuchungen, wann das Maximum erreicht wird, schwanken zwischen dem Ende des ersten bis zweiten Lebensjahres (BJÖRUM, KEMP, LODENKÄMPER und STIENEN) und dem fünften bis zehnten (GINGOLD, THOMMSEN und KETTEL), sowie bis zu einem Gipfel bei 15 - 20 jährigen (SCHIFF und MENDLOWICZ). Diese Bindungseigenschaft bleibt bis zum 30. Lebensjahr bestehen. Jenseits dieses Lebensalters nimmt die agglutinable Fähigkeit bei Männern und Frauen kontinuierlich ab und nähert sich im hohen Alter dem Ausgangspunkt (LODENKÄMPER).

Im Gegensatz zu den schon foetal nachweisbaren Gruppensubstanzen erscheinen die Isoantikörper relativ spät im Serum des Säuglings. In der Regel enthält das Serum des Neugeborenen zunächst keine Haemagglutinine. Treten sie jedoch auf, dann entspricht es den Erfahrungen von KIRIHARA, LIEBERG, HIRSZFELD, HECKO, SEELEN, v. LOGHEM und JUNGWIRTH, daß dieselben von der Mutter stammen, sie also während der Schwangerschaft via placenta in den Kreislauf der Frucht eingedrungen sind. Diese mütterlichen Leihantikörper haben die Lebenszeit passiv übertragener Eiweißkörper und verschwinden im Laufe der ersten drei Lebensmonate (MORVILLE, YLIRUOKANEN, KÖRNER) aus dem kindlichen Blutserum, um etwas später, der Gruppe des Kindes entsprechend, durch kindeseigene Isoantikörper ersetzt zu werden. Es können unter diesen Umständen bei Neugeborenen nur Antikörper nachgewiesen werden, die auch bei der Mutter vorhanden sind. Die Fähigkeit, autochthon Antikörper zu bilden, setzt erst in der zweiten Hälfte des ersten Lebensjahres ein; sie erreicht ihren Höhepunkt zwischen dem 5. - 10. Lebensjahr und fällt bei älteren Erwachsenen allmählich wieder ab. Im Greisenalter finden sie sich nur in geringer Menge oder können auch ganz fehlen (RASCH, DAHR).

Durch Arbeiten von WILDFÜHR und SHAW ist bekannt, daß die Isoagglutinine jahreszeitlichen und Temperaturschwankungen unterliegen. Ferner weisen sie Abhängigkeiten

von physischen Faktoren und in Ernährungssituationen einzelner Menschen auf. So beobachtete WILDFÜHR während des vergangenen Krieges bei Angehörigen der Wehrmacht und des Arbeitsdienstes, z.B. nach vorangegangenen Schutzimpfungen und nach starken körperlichen Anstrengungen eine Abnahme des Isoagglutinintiters.

Das Entstehen der Isoagglutinine Anti-A und Anti-B wird verschieden erklärt. SCHIFF, BERNSTEIN, FURUHATA, HIRSZFELD nehmen an, daß sie erblich geprägt sind. EHRLICH, THOMSEN und LEDERBERG halten die Haemagglutinine für antikörperähnlich, aber nicht für eigentliche Antikörper.

Nach der Theorie von LANDSTEINER, DUPONT, ARMANQUE, WIENER und KABAT werden die Isoantikörper im Laufe des Lebens auf exogene Reize hin gebildet.

Nach der Auffassung der genannten Autoren sind die natürlichen Isoantikörper, Anti-A und Anti-B, echte Antikörper, die vom Organismus als Antwort auf exogene Antigenreize gebildet werden, wobei die in Frage kommenden Antigene nicht fest umrissen wurden. Als Antigene kommen Blutgruppensubstanzen und blutgruppenähnliche Substanzen aus Bakterien, Viren, Pflanzen und Tieren in Betracht (SPIELMANN). In ähnlichem Sinne sprechen Veröffentlichungen von BÜHLER und DAHR, die durch Untersuchungen an eineiigen Zwillingen zeigten, daß Umweltsbedingungen den Isoantikörpertiter stark beeinflussen können.

In einer Inauguraldissertation konnte KÖRNER, angeregt durch Untersuchungen von PETTENKOFFER, MAASSEN und BICKERICH, experimentell eine Beziehung zwischen der Isoantikörperbildung und der Besiedlung des Säuglingsdarmes mit *Escherichia coli* nachweisen. Seine Versuche bestätigten die Annahme der oben genannten Autoren, daß die Isoantikörperbildung beim Säugling gerade zu dem Zeitpunkt einsetzt, nämlich innerhalb der ersten drei Lebensmonate, an dem die Besiedlung des Darmes mit

Escherichia coli erfolgt.

Die Tatsache, daß die Isoantikörper normalerweise nur gegen die Erythrozyten anderer Gruppen gerichtet sind, erklärt L.HIRSZFELD damit, daß nur zirkulationsfremde Substanzen bei Körpertemperatur eine aktive Antikörperbildung hervorrufen können. Das Anwachsen dieser wird vor allem durch innere Notwendigkeit bestimmt, wofür HIRSZFELD den Ausdruck der "serologischen Reifung" verwendet. Der Prozess dieser Reifung wird durch Immunisierungsvorgänge beschleunigt.

Chemisch gehören die Antikörper zu den Globulinen und zwar zu der Gammaglobulinfraktur.

Außer den regulären Isoantikörpern Anti-A und Anti-B müssen bei der Blutübertragung irreguläre Antikörper in erster Linie solche aus dem Rhesussystem beachtet werden. Nach den heutigen Kenntnissen setzt sich das Rh-System aus sechs verschiedenen Hauptfaktoren zusammen, welche in verschiedenen Kombinationen in oder auf menschlichen Erythrozyten verankert sind. Zwei verschiedene Nomenklaturen (WIENER und FISHER) werden für die Bezeichnung der Rhesusfaktoren verwendet, wobei diejenige nach FISHER mit den Faktoren D/d, C/c und E/e einfacher zu handhaben ist.

Diese Faktoren können in Genpaare aufgeteilt werden und sind erblich. Über die Entwicklung der Rh-Faktoren bei Foeten sind bisher wenig größere Arbeiten bekannt. Schon in frühester Foetalzeit haben einzelne Untersucher die Faktoren des Rh-Systems nachgewiesen, so gelang es beispielsweise SPEISER 1959 sogar bei einem 2,7 cm langen und 2,2 g schweren Embryo die Rhesusfaktoren zu bestimmen. In der Kinderklinik der Freien Universität Berlin bestimmte M.L. MASKE bei 45 Foeten im Alter von 2 - 8 Monaten systematisch die sechs Rh-Hauptfaktoren und konnte sie mit hochtitrigen Testseren eindeutig differenzieren, sobald genügend Blut von den Foeten zu gewinnen war. Zu dem Auftreten von Rh-Antikörpern kommt es bei einer

Sensibilisierung durch Transfusionen mit Rh unverträglichem Blut oder durch Graviditäten. Im letzteren Falle stammen die der Mutter fremden Blutgruppenantigene vom Foeten, der sie von seinem Vater geerbt hat. Die Mutter ihrerseits reagiert mit der Bildung von Rh-Antikörpern, diese gelangen diaplacentar in den kindlichen Organismus und können beim Kind verschieden schwere Bilder des Morbus haemolyticus neonatorum hervorrufen.

Auch auf das Kell-System müssen Störungen bei Bluttransfusionen bezogen werden. Dieses setzt sich aus den Faktoren K und k zusammen. Sie werden wiederum nach der Mendelschen Regel als Genpaar vererbt, wobei jeder Elternteil ein Gen des Genpaares weitergibt. Die Kell-Eigenschaft soll bei der Geburt nach RACE und SANGER gut entwickelt und wahrscheinlich auch im intrauterinen Leben vorhanden sein.

Vor allem gegen den Faktor K (Kell) können von Individuen des Types k/k irreguläre Antikörper gebildet werden. So sind einige Fälle von Morbus haemolyticus neonatorum bekannt, die ätiologisch auf das Kell-System zurückgeführt werden konnten. Zur Erfassung dieser Kell-Antikörper muß in der Regel die Standardkreuzprobe durch den indirekten COOMBS-Test ergänzt werden. Im Serum selbst treten die Antikörper in den meisten Fällen nicht isoliert auf, sondern kombiniert mit anderen Immunantikörpern und zwar meist mit solchen des Rh-Systems.

Nächst dem Kell-System ist das Duffy-System für die Blutübertragung von Wichtigkeit. Außerdem werden haemolytische Transfusionsstörungen in der Literatur vereinzelt durch die an das MN-System gekoppelten Allele S und s, durch Antikörper des Kidd-Systems u.a. beschrieben (SPIELMANN). Über die Entwicklung des Duffy-, des Kidd-Systems und der Allele S und s ist wenig bekannt. Der Nachweis von Duffy-Faktoren gelang CUTBUSH und

MOLLISON bei einem Foet von 7 cm Länge. RACE und SANGER, sowie SPEISER bestimmten die Typen Fy(a+) bei kleinsten menschlichen Früchten. Ebenso wiesen die genannten Untersucher bei zwei Foeten von 17 Wochen den Kidd-Faktor Ik(a+) und bei 12 - 17 Wochen alten S nach.

Der Mechanismus der Bildung von Antikörpern gegen die zuletzt genannten Faktoren entspricht dem bei Rh-Sensibilisierungen. Antikörperbildung gegen die Faktoren MN sind beim Menschen recht selten, und wenn derartige Antikörper nachweisbar sind, so sind sie in der Regel nur in der Kälte und nicht bei 37° wirksam. Dadurch rufen sie keine Störungen bei Transfusionen hervor. Letzteres gilt auch für das irreguläre Anti-P.

Es sei schon hier darauf hingewiesen, daß bei der Fragestellung die speziellen Wirkungen der irregulären Antikörper in der vorliegenden Arbeit nicht besonders berücksichtigt werden.

Zur Technik der Kreuzprobe

Über die Ausführung der Kreuzprobe gibt es in der Literatur die verschiedensten technischen Angaben (DAHR, P.FISCHER, HAASE, HOLLÄNDER, MATTHES und ORTH, MÖLLER, NAUMANN, RASCH, ZÖCKLER). Vereinzelt wurde ausdrücklich darauf hingewiesen, daß es von untergeordneter Bedeutung sei, welche Technik bevorzugt wird (BERGMANN). Viele Untersucher führen nur die "halbe Kreuzprobe", die Prüfung der Spenderblutkörperchen im Empfängerserum, den Major-Test durch. Andere wiederum fordern, daß unbedingt "die vollständige Kreuzprobe", also auch der Minor-Test, Prüfung der Empfängererythrozyten im Spenderserum, vor einer Transfusion angesetzt werden soll. So verlangt GRIFFITS die "vollständige Kreuzprobe", weil nur mit dem Minor-Test Antikörper im Spenderserum, die für den jeweiligen Patienten gefährlich werden, aufgedeckt werden können.

Speziell in der Pädiatrie bei Transfusionen für Neugeborene und Säuglinge sollte der Major- und Minortest zur Anwendung kommen. Wird diese Forderung nicht genügend berücksichtigt und allein der Major-Test durchgeführt, so kann das Ergebnis z.B. eine Verträglichkeit zwischen A-Spender und B-Empfänger vortäuschen. Die halbe Kreuzprobe muß in der Mehrzahl der Fälle versagen, da der junge Säugling physiologischerweise noch keine Agglutinine in seinem Serum besitzt. Erst durch die vollständig ausgeführte Probe können die gefährlich werdenden Antikörper im Spenderserum rechtzeitig erkannt werden. Von besonderer Wichtigkeit ist dies bei Austauschtransfusionen, bei denen größere Mengen von Spenderserum in den Empfängerorganismus mit übertragen werden.

Hat ein Patient schon mehrere Blutübertragungen erhalten und zum Teil sogar schlecht vertragen, so gehört er zu den "gefährdeten Empfängern". In einem solchen Fall sollte die Verträglichkeitsprobe durch den indirekten Antiglobulintest (COOMBS-Test) zwischen Empfängerserum und Spenderblutkörperchen ergänzt werden.

Die "biologischen Proben" nach OEHLECKER und WIENER sind der serologischen Verträglichkeitsprobe eindeutig unterlegen, versagen in einer ganzen Reihe von Fällen (Narkose, Rh-Faktor) und bedürfen außerdem großen Zeitaufwandes (DAHR, HÄSSIG, HOLLÄNDER). Sie dienen zur Ergänzung der serologischen Kreuzproben, können diese aber keinesfalls ersetzen.

Der Zeitraum, der zwischen dem Ansetzen einer Kreuzprobe und dem Ablesen der Ergebnisse vergehen soll, wird im allgemeinen mit 30 Minuten angegeben. Da nur solche Antikörper einen Zwischenfall verursachen, die bei Körpertemperatur reagieren, ist es erforderlich, die Probe bei einer Reaktionstemperatur von 37°C anzusetzen.

Die Aufschwemmung der Blutkörperchen erfolgt in ver-

schiedenen Medien, welche in drei große Gruppen eingeteilt werden können:

1. die elektrolytischen Lösungen
(z.B. physiologische Kochsalzlösung);
2. die kolloidalen Lösungen
(z.B. menschliches AB-Serum, Kollidon, Biogel, Albumin, besonders 20 und 30% Rinderalbumin);
3. Suspension in salinischer Lösung mit Zugabe von pflanzlichen oder tierischen Enzymen
(z.B. Papain, Bromelin (B.PIROFSKY), Trypsin).

Zwei verschiedene Antikörpertypen müssen berücksichtigt werden:

1. die sog. kompletten Antikörper (Agglutinine, bivalente oder saline Antikörper). Sie bewirken eine direkte Agglutination der korrespondierenden Erythrozyten, auch dann wenn diese in NaCl-Lösung aufgeschwemmt worden sind.
2. die inkompletten (blockierenden, univalenten oder albuminen) Antikörper (Immunantikörper) reagieren nur in Abwesenheit von Kochsalzlösung. In Kochsalzlösung können sie die Blutkörperchenrezeptoren blockieren, aber es kommt keine Agglutination zustande. Ein weiterer Faktor ist notwendig, um die Reaktion zu ermöglichen und zwar ein sog. Supplement oder Konglutinin. Die dabei entstehende Agglutination wird nach WIENER mit Konglutinationsreaktion bezeichnet.

Die Zahl der in der Literatur angegebenen Konglutininmethoden ist sehr groß. Je nach ihrer Erfahrung und Einstellung stellten die einzelnen Autoren die für die Aktivierung der inkompletten Antikörper erforderliche Konglutininwirksamkeit im Kreuzprobenansatz in verschiedener Weise dar. Während sich manche Untersucher auf die Wirkung der Konglutinine der zu untersuchenden Seren selbst verlassen und lediglich dafür sorgen, daß diese aktive Eigenschaft nicht durch Salzlösung aufgehoben wird (FOSSEL, HUMMEL, HEPFNER, DAHR bei der "vereinfachten

Form der Kreuzprobe"), ziehen andere vor, den Ansatz bekannter Konglutininlösungen zur Stabilisierung hinzuzufügen. Als Zugabe werden in erster Linie 20 und 30% Albuminlösungen (SCHELLONG) und AB-Serum empfohlen (DAHR, FISCHER, KOPPELMANN).

SPIELMANN zeigte in Versuchen darüber hinaus, daß es Stoffe gibt, die obgleich sie keine Eiweißnatur besitzen, eine ausgeprägte Konglutininwirkung aufweisen, wie z.B. das Periston (Polyvinylpyrrolidin). Er schloß daraus, daß wahrscheinlich nur physikalisch-chemische Eigenschaften, wie die molekulare Teilchengröße (Molekulargewicht) und -form (HAILE) und ihre elektrische Ladung (PUNIN), für die Konglutination verantwortlich sind. Nach SPIELMANN ist der Konglutiningehalt nicht in allen Seren gleich hoch. In seiner Arbeit über "das Wesen der Konglutininreaktion" stellte er fest, daß die Konglutininwirkung bei Neugeborenen und jungen Säuglingen fast vollkommen fehlt. Nach seiner Auffassung kann dieser Umstand nicht allein auf den niedrigen Serumeiweißspiegel während dieses Lebensabschnittes zurückgeführt werden, sondern er macht hierfür Hemmungssubstanzen verantwortlich, die in manchen Seren vorhanden sind, und die die Aggregation von gewissen Globulinen und Albuminen zu den als konglutinationswirksamen Eiweißkörpern verhindern. Die Bildung von Stoffen mit der richtigen Teilchengröße und -form bleibt also aus.

Inkomplette Antikörper können auch mit Hilfe von proteolytischen Fermenten nachgewiesen werden, die die Fähigkeit haben Erythrozytenmembranen so zu verändern, daß sie mit denen ihnen entsprechenden Antikörpern leichter reagieren können. Ohne die Wirkung der Fermente wäre der inkomplette Antikörper nicht in der Lage, einen Ausfall des Reaktionsgemisches zuwege zu bringen. Es ist daher die fermentative Präparation der unspezifische Teil der Reaktion, die nur eine leichtere Fällbarkeit der Zellen bedingt und die Einwirkung der inkompletten Antikörper

der zweite, spezifische Teil bei dieser Art von Testen (SFEISER, RICE und NEUHOLD).

Von der Verwendung von Pepsin, das aus dem Magensaft stammt, und Trypsin, welches im Pankreassaft vorkommt, ist man zur Verwendung pflanzlicher Enzyme übergegangen.

Der Unterschied zwischen kompletten und inkompletten Antikörpern wird von SPIELMANN als nicht grundsätzlicher Natur angesehen. Er nimmt an, daß den inkompletten bestimmte Molekülgruppen fehlen, die bei den kompletten vorhanden sind. Hypothetisch wurde an hydrophile Seitenketten oder fermentative Wirkungsgruppen im Antikörpermolekül gedacht. Nach CHU und COOMBS liegt der Unterschied für das verschiedene serologische Verhalten der Antikörperarten in erster Linie in der Molekülgröße.

Fragestellung

Einer besonderen Betrachtung bedarf die Verträglichkeitsprobe in der Kinderheilkunde. Einleitend wurde ausgeführt, daß im Serum der Neugeborenen und jungen Säuglinge die Isoagglutinine noch nicht vorhanden oder in geringer Menge diaplastentar aus dem mütterlichen Serum übertragen sind. Dabei ist zu bedenken, daß die kompletten Antikörper nur schwer oder überhaupt nicht, im Gegensatz zu den inkompletten die Placentabariere passieren. Zu ihrem Nachweis sind unbedingt kolloidale Medien erforderlich. Wenn die eigene Isoagglutininproduktion einsetzt, ist dagegen mit dem Auftreten von kompletten Antikörpern zu rechnen. Bei allen Immunisierungen werden normalerweise am Anfang zuerst komplette (19 S) Antikörpertypen gebildet. Es erhebt sich nun die Frage, ob diese gerade entstehenden Antikörper in salinischen und kolloidalen Medien gleich gut erkennbar sind.

In zahlreichen Veröffentlichungen halten verschiedene

Autoren eine Suspension der Erythrozyten in physiologischer Kochsalzlösung bei Untersuchungen von Erwachsenen für überflüssig, "da ein agglutinierender Antikörper auch unter den bei der Konglutinationsreaktion herrschenden Versuchsbedingungen reagiert, ist es durchaus zulässig, im Sinne der Vereinfachung der Methode auf eine besondere Anstellung der Agglutination zu verzichten" (DAHR). Andere Untersucher (z.B. HOLLÄNDER) verlangen eine Prüfung sowohl in Kochsalzlösung als auch in kolloidalem Milieu.

Im Rahmen dieser Arbeit soll nun untersucht werden, ob die Anschauung der erwähnten Autoren speziell für die Kinderheilkunde zu Recht besteht, daß bei der Kreuzprobe die Aufschwemmung im kolloidalen Milieu allein genügt und der Kreuztest in NaCl-Lösung vernachlässigt werden kann.

Methode

Es wurde das Blutserum von 107 Probanden untersucht, die sich auf folgende Altersgruppen verteilten:

Gruppe	I : 0	- 4. Monat	(16)
Gruppe	II : 5.	- 9. Monat	(30)
Gruppe	III : 10.	- 15. Monat	(20)
Gruppe	IV : 16. Monat	- 6. Lebensjahr	(19)
Gruppe	V : 7.	- 15. Lebensjahr	(10)
Gruppe	VI : 16.	- 30. Lebensjahr	(12)

Bei den Säuglingen und Kleinkindern wurde das Blut durch Punktion der Kopfvenen, bei den übrigen aus den Armvenen entnommen.

Die Bestimmung der vier klassischen Blutgruppen und der Isoantikörper erfolgte nach 24stündigem Aufenthalt im Kühlschrank folgendermaßen:

Das Serum wurde vom Blutkuchen durch Zentrifugieren während 5 Minuten bei einer Umdrehungszahl von ca. 3500 pro Minute getrennt und vorsichtig dekantiert.

Aus dem Erythrozytensediment wurde eine Aufschwemmung in Kochsalzlösung hergestellt, und mit staatlichen Testseren erfolgte die Blutgruppenbestimmung. Blut der Gruppe AB wurde für die weiteren Versuche verworfen.

Das Ansetzen der Kreuzprobe geschah nach der an der Kinderklinik der Freien Universität zu Berlin üblichen Methode:

Kreuzprobe:

1. Reihe

<u>Empfängerserum</u>	<u>Empfängerserum</u>	<u>Spenderserum</u>
+ 2-3%ige Aufschwemmung der Spendererythrozyten in NaCl-Lösung	+ 2-3%ige Aufschwemmung der Spendererythrozyten in Spenderserum	+ 2-3%ige Aufschwemmung der Spendererythrozyten in Spenderserum

2. Reihe

<u>Spenderserum</u>	<u>Spenderserum</u>	<u>Empfängerserum</u>
+ 2-3%ige Aufschwemmung der Empfängererythrozyten in NaCl-Lösung	+ 2-3%ige Aufschwemmung der Empfängererythrozyten in Empfänger-serum	+ 2-3%ige Aufschwemmung der Empfängererythrozyten in Empfänger-serum

Hauptproben	Kontrolle

In den Modellversuchen wurden außer Aufschwemmungen der Spendererythrozyten in NaCl-Lösung und in Eigenserum noch folgende Suspensionsflüssigkeiten verwandt:

1. Aufschwemmung im menschlichen AB-Serum
2. " " in 20% Rinderalbumin (ASID-Institut)
3. " " in 30% Rinderalbumin (DADE)

4. Aufschwemmung in Biogel (BIOTEST: Opus Nr. 108604)
5. " " in NaCl-Lösung und spätere Zugabe von Papain (das pflanzliche Enzym wurde an jedem Versuchstag neu aus der Tiefkühltruhe entnommen, aufgetaut und zur Probe verwandt, wobei auf einen Tropfen der Kochsalzsuspension ein Tropfen Papain verwandt wurde).

Die Enzymlösung war nach den Angaben von LÖW folgendermaßen hergestellt worden:

Papainlösung

2 g Papain (Papayotin Merck 1:350) werden in einem Mörser mit 100 ml m/15 Phosphatpuffer, pH 5,4 verrieben. Nach Filtration werden 10 ml 0,5 m Cystein (zur Aktivierung des Fermentes) zugesetzt und die Lösung mit dem Puffer auf 200 ml verdünnt. Hierauf wird 1 Stunde lang auf 37°C erwärmt.

Nach der Inkubation ist das Ferment sofort gebrauchsfertig. Es kann bei -20°C viele Monate hindurch aufbewahrt werden, wobei nur ein kleiner Abfall der Aktivität zu verzeichnen ist.

Auf Mattglasscheiben wurde je ein Tropfen des Empfänger-serums mit einem Tropfen der Erythrozytensuspension in den verschiedenen Medien gekreuzt. Dabei wurde Serum der Gruppe A gegen B-Erythrozyten, B-Serum gegen A-Erythrozyten und O-Serum sowohl gegen A als auch gegen B-Erythrozyten angesetzt. Als Spender stellten sich mir freundlicherweise Schwestern, Laborantinnen und Ärzte für die Testerythrozyten zur Verfügung.

Nach einem Aufenthalt der Proben in einer feuchten Kammer im Brutschrank bei 37°C erfolgte die Ablesung der Ergebnisse makroskopisch nach 30 und nach 60 Minuten. Je nach Ausfall der Blutkörperchenzusammenballung bereitete ich eine Verdünnungsreihe in den verschiedenen genannten Medien, um den Isoantikörpertiter festzustellen. Die Stärke der Agglutination in jeder Stufe wurde notiert. Als Titerwert einer Reihe wurde die höchste Verdünnungsstufe, in welcher noch eine mit (+) = schwach

positiv zu bezeichnende Reaktion auftrat, verwertet. Die Bewertung der Agglutinations- bzw. der Konglutinationsreaktion erfolgte in drei verschiedenen Agglutinationsgraden:

(+) = schwach positiv
+ = positiv
++ - ++++ = stark positiv

Bei meinen Untersuchungen habe ich lediglich die regulären Isoagglutinine Anti-A und Anti-B berücksichtigt, da ihnen die größte Bedeutung bei Transfusionszwischenfällen zukommt. Es ist nicht das Ziel dieser Arbeit, die günstigsten Nachweisbedingungen für inkomplette irreguläre Antikörper im Serum von Säuglingen zu ermitteln, wie es z.B. SCHELLONG und SPIELMANN getan haben.

Ergebnisse:

In den Abbildungen 1 - 6 sind die Resultate der Titerbestimmungen in den verschiedenen Medien und in den sechs verschiedenen Altersgruppen graphisch dargestellt, wobei auf der Abzisse die Konzentration der Antikörper im jeweiligen Verdünnungsmedium im Verhältnis 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64 und 1:128 aufgetragen ist.

Die Ordinate zeigt die prozentuale Häufigkeit der Agglutination in einzelnen Verdünnungsstufen an. Kam eine Reaktion z.B. in allen Fällen der geprüften Gruppe zustande, so ist der positive Ausfall gleich 100% und entspricht graphisch dem Teilstrich 100 auf der Ordinate. Weiterhin ist aus der Darstellung durch verschiedenartige Schraffierungen der Agglutinationsgrad zu entnehmen. Jede einzelne Säule, die einer Verdünnungsstufe entspricht, ist wiederum in fünf Kolumnen unterteilt. Die erste zeigt die Reaktion in Kochsalzmilieu, die zweite in AB-Serum, die dritte in 20% Rinderalbumin, die vierte in 30% Rinderalbumin und die fünfte bei Zugabe von Papainlösung. Dabei ist zu bedenken, daß in den Papain-Tests nicht wie

in allen anderen Proben zwei Tropfen, sondern drei miteinander vermischt worden sind, wodurch jeweils eine 50% höhere Verdünnung zustande kommt.

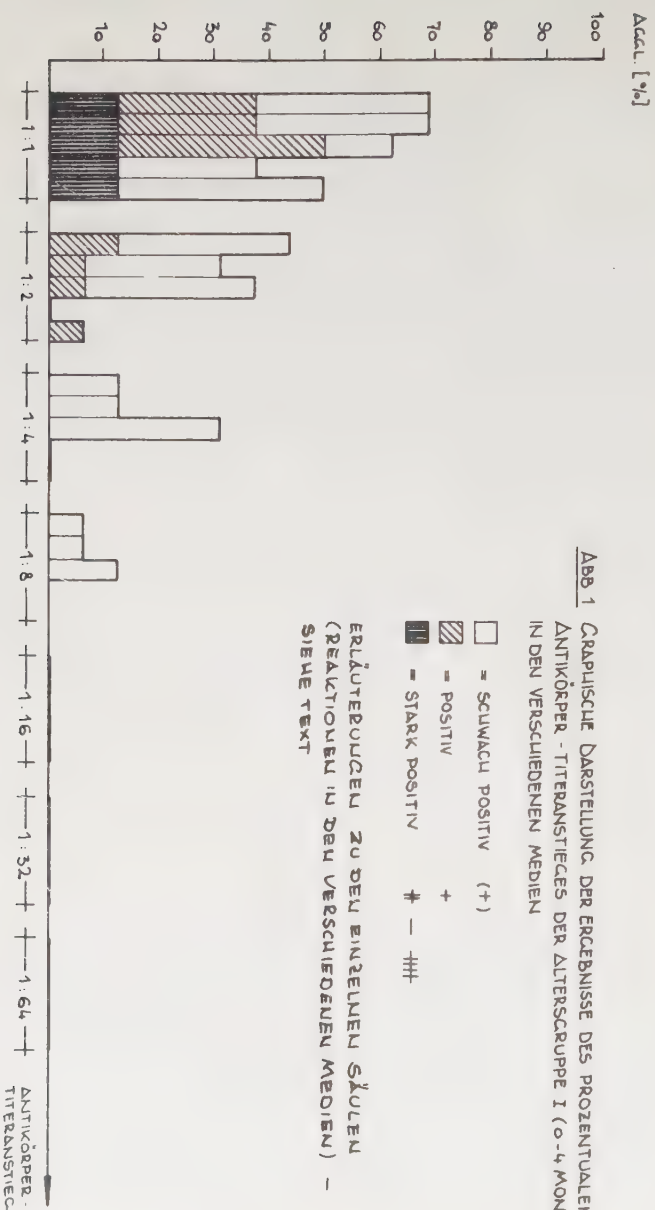
Aus den Abbildungen ist zu entnehmen, daß die Aufschwemmungen in physiologischer Kochsalzlösung und in 20% Rinderalbumin die höchsten Titer ergaben. SCHELLONG stellt in seinen "vergleichenden Untersuchungen über die Empfindlichkeit verschiedener Konglutinationsmethoden bei der Kreuzprobe" ebenfalls fest, daß sich bei den von ihm überprüften Konglutininlösungen das 20% Rinderalbumin (Behring-Werke) als am geeignetsten erwies. Er empfahl es für den praktischen Gebrauch bei der Kreuzprobe.

Prozentual und in ihrer Agglutinationsstärke niedrigere Resultate als die Aufschwemmung der Blutkörperchen in Salzlösung und 20% Rinderalbumin erbrachte der Ansatz im menschlichen AB-Serum.

30% Rinderalbumin zeigt in der Gruppenverteilung Unterschiede. Während es bei Neugeborenen und bei den Säuglingen bis zu 9 Monaten weniger gut bzw. nur im Mischungsverhältnis 1:1 und 1:2 reagiert, steigt seine Konglutinationsaktivität in den Gruppen III bis VI an, erreicht aber auch hier nur Verdünnungsstufen von 1:8.

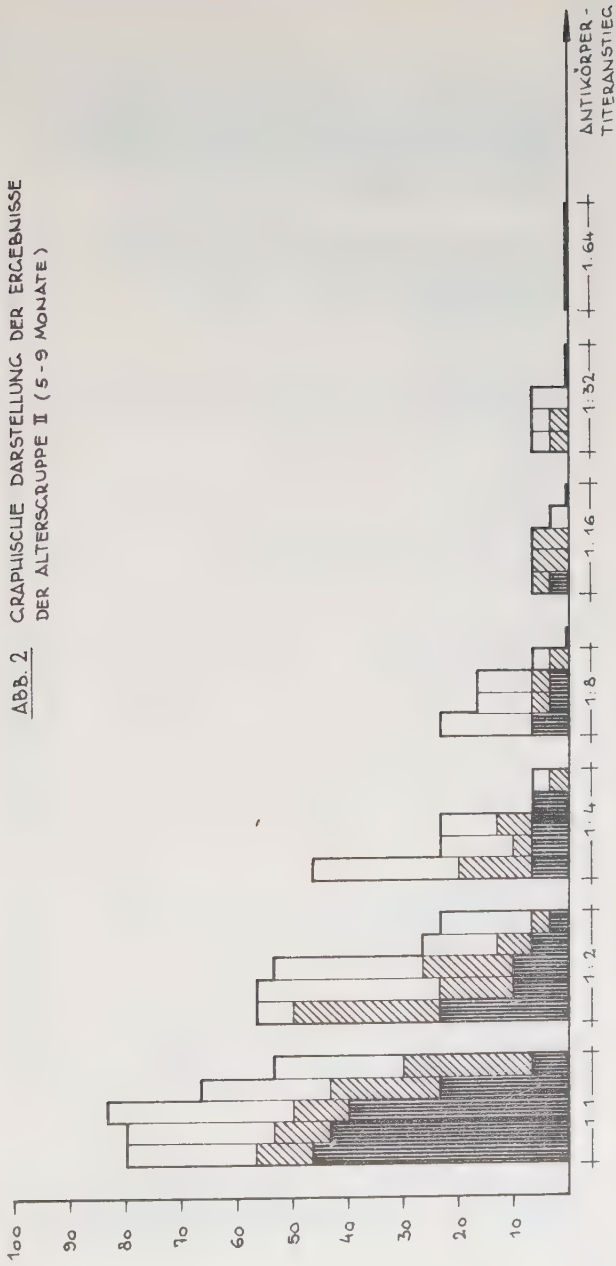
Fast gleiche Ergebnisse zeigen sich in den Gruppen I und II nach Zugabe von Papain. Auch hier finden sich mit zunehmenden Antikörpertiter im höheren Alter mehr positive Resultate.

Die Aufschwemmung der Blutkörperchen in Gelatinelösung (Biogel - BIOTEST Opus Nr. 108604) ergaben bei der stets am Ende der Verdünnungsreihe mitgeführten negativen Kontrolle, die lediglich aus einem Tropfen der Verdünnungsflüssigkeit und dem zugeführten Spendererythrozyten bestand, häufig eine unspezifische Reaktion (siehe auch SCHELLONG); dadurch konnten die Ergebnisse in der die verschiedenen agglutinierenden und konglutinierenden Medien vergleichenden Arbeit nicht berücksichtigt werden.



AGGL. [%]

ABB. 2 GRAPHSCHUE DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE
DER ALTERSGRUPPE II (5-9 MONATE)



AccL [%]

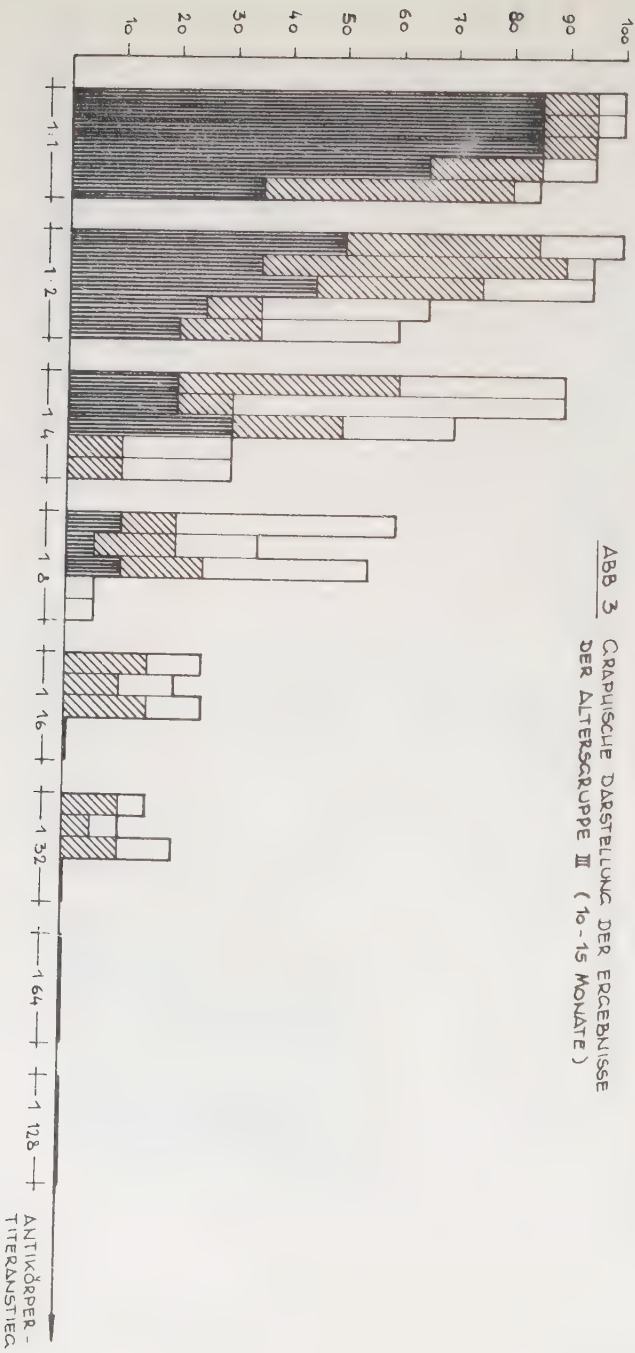
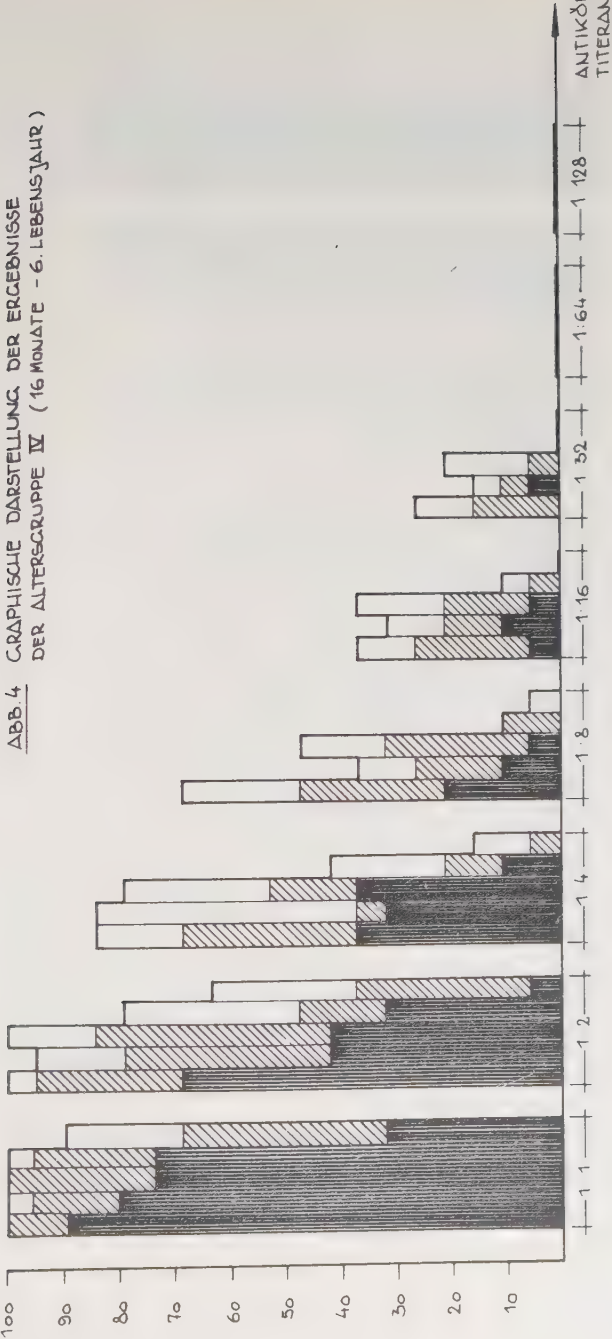


ABB 3
GRAPHISCHE DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE
DER ALTERSGRUPPE III (10-15 MONATE)

AGGL [%]

ABB. 4 GRAPHISCHE DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE
DER ALTERSGRUPPE IV (16 MONATE - 6. LEBENSJAHR)



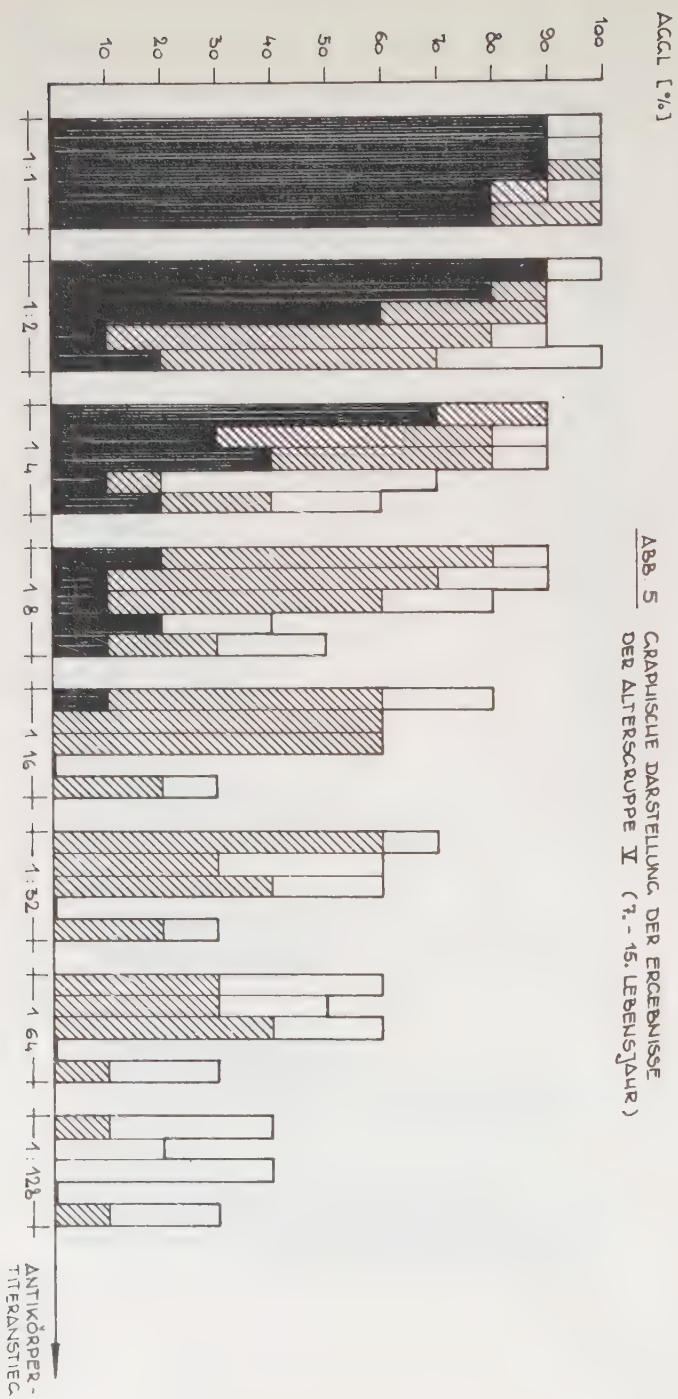
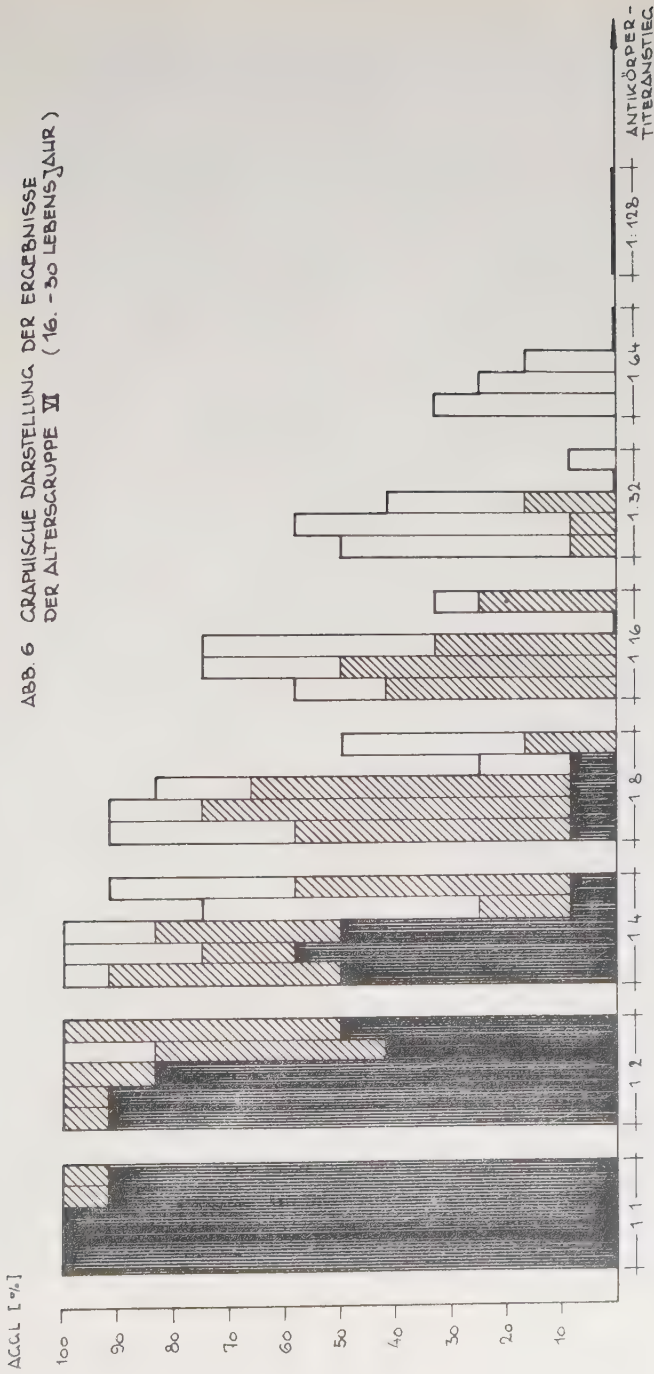


Abb. 5
GRAPHISCHE DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE
DER ALTERSGRUPPE V (7. - 15. LEBENSJAHR)

ABB. 6 GRAPHISCHE DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE
DER ALTERSGRUPPE VII (16. - 30. LEBENSJAHR)



Diskussion

In der Gruppe I bei Neugeborenen und Säuglingen bis zu 4 Monaten finden sich in Einzelfällen Titer von 1:8. Die Suspension in Kochsalzlösung und AB-Serum reagierte im Verhältnis 1:1 in 68,8%, 20% Rinderalbumin in 62,5%, Papain in 50% und 30% Rinderalbumin in 37,5%. In der zweiten Verdünnungsstufe waren die Reaktionen in physiologischer Kochsalzlösung in 43,8%, in 20% Rinderalbumin in 37,5%, in AB-Serum in 31,3% und in Papainlösung in 6,3% der Fälle positiv.

Aus Abbildung 1 ist eine kontinuierliche Wirkungsabnahme mit 20% Rinderalbumin in der Verdünnung 1:4 und 1:8 zu ersehen, reagierte diese in der dritten Verdünnungsstufe in 31,3%, so zeigten NaCl und AB-Serum nur in 12,5% eine schwach positive Agglutination, während 30% Rinderalbumin und Papain negativ blieben. Auch die Verdünnung 1:8 erbrachte mit der vorhergehenden Stufe vergleichbare Ergebnisse; schwach positive Zusammenballungen der Erythrozyten zeigte 20% Rinderalbumin in 12,5%, NaCl-Lösung und AB-Serum in 6,3% der Proben. Höhere Antikörpertiter konnten in der Altersgruppe I nicht festgestellt werden. In dieser Gruppe muß 20% Rinderalbumin als Medium mit dem höchsten Titerwert neben der Aufschwemmung in 0,9% NaCl-Lösung angesehen werden. An dritter Stelle folgt dann menschliches AB-Serum.

Besonderer Erwähnung bedürfen die Modellversuche des Serums Nr. 94. In diesem Fall wurde lediglich in physiologischer Kochsalzlösung und in AB-Serum eine Agglutination festgestellt, während sie in 20% Rinderalbumin und den anderen Aufschwemmungsmedien nicht beobachtet werden konnte.

Während andere Untersucher in den ersten Lebenswochen geringe Mengen an Isoantikörper in 54,5% (KÖRNER) bzw. 40% (YLIRUOKANEN) der von ihnen untersuchten Kinder fanden, konnte ich im Serum von Kindern unter einem Monat nur 20% isoagglutinine finden. Doch waren sie im Serum

der über 1 Monat alten Säuglingen in allen Fällen vorhanden. Hierbei handelt es sich um vier Säuglinge im Alter von 1 Monat, drei von 2 Monaten, zwei von 3 Monaten und zwei im Alter von 4 Monaten.

Die von den genannten Autoren gefundenen relativ hohen Titerwerte in den ersten Lebenswochen sind durch den Eintritt von mütterlichen Antikörpern zu erklären. SEELEN zeigte, daß die Placenta für mütterliche Antikörper keine absolute Schranke darstellt. Immunantikörper passieren leichter, komplette Antikörper dagegen seltener. Anti A weist im Nabelschnurblut höhere Titer auf als Anti B, selbst wenn z.B. im mütterlichen Blut der Anti B Titer höher war als der Anti A Titer. Nach SEELEN bestehen auch Unterschiede, die durch die Blutgruppenkombination Mutter - Kind bedingt sind. Bei der Kombination O - O war Anti A zu 74,2%, Anti B zu 62,1%, bei der Kombination Kind O - Mutter A oder B war Anti A zu 28,6% und Anti B nur zu 16,7% im kindlichen Serum nachweisbar. Die mütterlichen Antikörper sollen bis zu 6 - 8 Wochen nach der Geburt im kindlichen Serum vorhanden sein, um erst dann abgebaut zu werden. Untersuchungen über die Halbwertszeit der Gammaglobuline haben Werte von 7 - 14 Tage ergeben (DIECKMANN, GRUNZE, OEFF und PETTENKOFFER). Nach KÖRVER fällt in den ersten Monaten nach der Geburt der zunächst noch normale Gamma-Globulinspiegel sehr schnell auf etwa ein Viertel und weniger ab, um erst im Laufe des zweiten Lebensjahres allmählich wieder Normalwerte zu erreichen. Dadurch sind die relativ hohen Titerwerte in den ersten Lebenswochen zu erklären.

Die Säuglinge vom 5. - 9. Monat in der Altersgruppe II weisen höhere Titerwerte auf (Abb. 2). Der steigende Titer in dieser Gruppe ist durch die im 2. - 6. Monat autochthon einsetzende Isoantikörperproduktion bedingt (MORVILLE, KÖRNER). Im Verhältnis 1:1 reagierten NaCl-Lösung, AB-Serum und 20% Rinderalbumin gleich. Eine größere Agglutinationswirksamkeit zeigt die Aufschwemmung

im Salzmilieu in den Stufen 1:4 und 1:8, jedoch haben die Verdünnungsstufen 1:16 und 1:32 gleiche Resultate der ersten Medien wie im Verhältnis 1:1. THOMSEN und KETTEL fanden in dieser Altersgruppe einen Isoantikörpertiter bei 0 Anti A 1:32, Anti B 1:16, bei der Blutgruppe A Anti B 1:8 und bei B Anti A 1:16 bis 1:32. Meine Befunde stimmten in dieser Altersgruppe etwa damit überein.

In der Altersgruppe vom 10. - 15. Monat steigt die Stärke der Agglutinationsaktivität, der höchste Titer liegt allerdings auch in dieser Gruppe bei 1:32 (Abb. 3). Lag eine positive Reaktion im Mischungsverhältnis 1:1 bei den 5 - 9 Monate alten Säuglingen nur in 80% der Fälle vor, so zeigt sich hier die Zunahme des Titers in einer 100%igen Agglutination in Kochsalzlösung und in AB-Serum im Verhältnis 1:1. In der Verdünnungsstufe 1:2 weist nur noch die Suspension in Kochsalzlösung einen positiven Ausfall in 100% der Proben auf, während AB-Serum und 20% Rinderalbumin mit 95% folgen, reagierten 30% Rinderalbumin und Papain nur in 65% bzw. 60% der Versuche. Die Aufschwemmung in NaCl-Lösung ist bei 1:8 den anderen Medien überlegen, in stärkeren Verdünnungen (1:32) dann die in 20% Rinderalbumin.

Die Altersgruppen IV - VI (Abb. 4-6) zeigen gleichartige Resultate hinsichtlich der einzelnen Verdünnungsflüssigkeiten. Die Höhe des Isoantikörpertiters und der Agglutinationsgrad steigt mit zunehmendem Alter bis zur Gruppe V, aber schon in der nächsten Altersklasse ist eine Abnahme der Agglutinationswirksamkeit zu verzeichnen. Die Altersklasse V der Kinder zwischen 7 und 15 Jahren ist die Klasse mit der höchsten ausgeprägten Agglutinationsbreite und -stärke. Noch in der Verdünnung 1:128 bewirken die Suspensionsmittel: NaCl-Lösung, AB-Serum, 20% Rinderalbumin und Papain eine deutlich feststellbare Agglutination bis zu ca. 35% der Fälle.

Damit entsprechen meine Ergebnisse der Feststellung von GINGOLD, THOMSEN und KETTEL, daß das Maximum der Agglu-

tinationsstärke und der höchste Titerwert bei 5 - 10 jährigen erreicht wird und widersprechen der von SCHIFF und MENDLOWICZ geäußerten Annahme, daß der höchste Titer "dem kräftigsten Mannesalter", also dem bis zu 30 Jahren angehöre, um sich erst im Greisenalter wieder allmählich dem Ausgangspunkt zu nähern.

Beim Vergleich der prozentualen Agglutinationsergebnisse der sechs Altersgruppen zwischen der Aufschwemmung in Kochsalzlösung und den kolloidalen Suspensionen erkennt man aus den graphischen Darstellungen besonders gute Resultate für die im salinischen Milieu aufgeschwemmten Erythrozyten der Gruppe II. Hier ist es das Medium mit dem stärksten Agglutinationsgrad und dem höchsten Titer. Auch die Gruppe III weist in der Verdünnung 1:2 bis 1:8 in NaCl-Lösung die höchste Agglutinationsstärke auf. Aus den Abb. 4-6 sind keine wesentlichen Unterschiede in der vergleichenden Auswertung der prozentualen Agglutinationen zu ersehen. Die höchsten Resultate zeigt die Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung und in 20% Rinderalbumin.

In den Versuchsergebnissen der Gruppe II und III ist die Suspension in Salzlösung den anderen Medien überlegen. Das könnte dafür sprechen, daß die gerade gebildeten Isoantikörper besonders gut in NaCl-Lösung nachweisbar sind.

Wenn bei Erwachsenen die Anschauung von DAHR u.a. wohl ihre Berechtigung hat, daß im Sinne einer Vereinfachung auf eine besondere Anstellung der Agglutination verzichtet werden kann, ist diese Meinung für die Durchführung der serologischen Verträglichkeitsprobe in der Kinderheilkunde keinesfalls vertretbar.

Zusammenfassung

Zur Sicherung der Verträglichkeit zwischen Spender- und Empfängerblut wird vor Bluttransfusionen eine Kreuzprobe in vitro durchgeführt. Die Technik der Kreuzprobe ist bei Erwachsenen weitgehend festgelegt. Bei Säuglingen ergeben sich durch die erst im 3. - 6. Lebensmonat einsetzende Bildung der sogenannten natürlichen Isoantikörper Besonderheiten in der Beurteilung dieser Probe. So können z.B. beim vollständigen Fehlen der Isoantikörper Unverträglichkeiten im ABO-System übersehen werden. In der vorliegenden Arbeit sollte diesen Besonderheiten bei jungen Kindern nachgegangen und das günstigste Nachweisverfahren für die gerade eben gebildeten Isoantikörper Anti A und Anti B ermittelt werden. Irreguläre Antikörper blieben bei den Versuchsansätzen unberücksichtigt.

Es wurden Untersuchungen mit dem Blut von 107 Probanden verschiedener Lebensalter durchgeführt. Der Ansatz der Kreuzprobe geschah nach der in der Kinderklinik der Freien Universität Berlin üblichen Methode; dabei wurden in den Modellversuchen, um positive Ergebnisse zu erzielen, gegensätzliche Blutgruppen gekreuzt. Als Aufschwemmungsmedium für die Erythrozyten wurden salinische und kolloidale Lösungen verwendet und außerdem proteolytische Fermente zugesetzt. Trat eine Agglutination auf, so testete ich das Serum in einer Verdünnungsreihe unter Zusatz der betreffenden Erythrozytensuspensionen. Auf diese Weise konnten Isoantikörpertiter in den einzelnen Medien ermittelt und in Beziehung zum Alter der Kinder gesetzt werden.

In der Aufschwemmung in 0,9%iger NaCl-Lösung und in 20%igem Rinderalbumin zeigten sich die höchsten Titerwerte. Die mit AB-Serum gewonnenen Werte lagen niedriger. Suspensionen der Spendererythrozyten in 30%igem Rinderalbumin ergaben nur eine schwache Agglutination - höchstens bis zur Verdünnungsstufe 1:8. Die Tests mit in Gelatine-Lösung (Biogel) aufgeschwemmten Spendererythrozyten zeigten eine Häufung von unspezifischen Reaktionen in

den mitgeführten negativen Kontrollen.

Wurde dem Serum-Erythrozytengemisch das pflanzliche Ferment Papain zugesetzt, welches zum Nachweis einzelner irregulärer, inkompletter Antikörper besonders geeignet ist, so fanden sich Titerwerte für Anti A und Anti B, die unter denen der salinischen und den meisten kolloidalen Medien lagen. Jedoch waren die Resultate besser als mit 30%igem Rinderalbumin.

Außer der Höhe des erzielten Titerwertes wurde auch die Intensität der jeweiligen Agglutination bewertet. Hierbei zeigte sich, daß die Suspension in NaCl-Lösung in fast allen Verdünnungsstufen die höchste Agglutinationswirksamkeit aufwies.

Diese Befunde waren etwa gleichartig in allen Altersklassen erkennbar. Lediglich die Wirkung des Papains war bei älteren Individuen intensiver als bei den jungen Säuglingen. Die gute Agglutination in NaCl-Lösung gewinnt eine besondere Bedeutung bei den 5 bis 15 Monate alten Säuglingen. Es erscheint deshalb für Kreuzproben bei jungen Kindern nicht zweckmäßig, aus Gründen der Vereinfachung die Erythrozytenaufschwemmung in NaCl-Lösung fortzulassen, wie es von einigen Autoren vorgeschlagen wurde.

Literaturverzeichnis

1. ARMANGUE, M.: Schw. Z. Path. Bakt. 8 360 1945
2. BERGMANN, H.: Wien. klin. Wschr. 502 1955
3. BJÖRUM, A. u. T. KEMP: Akta path. mikrob. Skand.
6/7 218 1929/30
4. BLUMENTHAL, G. u. K. GILLERT: Naturwissensch. 39 309 1952
5. BLUMENTHAL, G., K. GILLERT u. R. WULKOW: Ber. 7. Tagg.
dtsh. Ges. Bluttr. Berlin 1958 Bibl. haemat. 9 218
KARGER Basel/New York 1959
6. BÜHLER, E.: Z. indukt. Abst.- u. Vererbungsl. 70 436 1935
7. CRAWFORD, H., M. CUTBUSH u. P. MOLLISON: Blood 8 636 1953
8. CHU, C. M. u. R. A. COOMBS: Lancet 1 484 1947
9. CUTBUSH, M. u. P. MOLLISON: Heredity 4 383 1950
10. DAHR, P.: Dtsch. med. Wschr. 79 401 1954
11. DAHR, P.: Ergeb. Hyg. 29 84 1955
12. DAHR, P.: Med. Klin. 288 1948
13. DAHR, P.: Med. Welt 3 127 1962
14. DAHR, P.: Z. Rassenphysiologie 12 1 1940
15. DIECKMANN, B., H. GRUNZE, K. OEFF u. H. J. PETTENKOPFER:
Ärztl. Wschr. 12 910 1957
16. DUPONT, M.: Arch. int. Med. exp. 9 23 1934
zit. n. SCHIFF, M.: Imm. Fsch. 110 185 1953
17. FISCHER, K.: Sonderdruck MATERIA MEDICA NORDMARK Okt. 1957
18. FISCHER, K. u. H. KOPPELMANN: Ärztl. Wschr. 736 1953
19. FOSSEL, M.: Klin. Med. 602 1949
20. FURUHATA, T., K. ISCHIDA u. T. KISHI: Jap. med. world
7 197 1927
21. GINGOLD, N.: Sang. 29 230 1958
22. GRIFFITS, J.: "Kurs für Blutbank-Serologie" Salzburg 1959
23. HAASE, H. u. G. LIEBING: "Das Blutspendewesen"
VEB Georg Thieme Leipzig 1959
24. HÄSSIG, F. u. L. HOLLÄNDER: Praxis 957 1952
25. HAILE, H.: Imm. Fsch. 110 100 1953
26. HECKO u. VARCLOVA: Zschr. Kinderheilk. 59 32 1937
27. HEIM, W. u. P. DARR: "Einrichtung u. Arbeitsweise einer
Blutbank" Georg Thieme Verlag Stuttgart 1954
28. HEINER, F.: "Die Blutbank" Springer Verlag Wien 1951
29. HIRSZFELD, L.: "Konstitutionsserologie und Blutgruppen-
forschung" Springer Verlag Berlin 1928
30. HIRSZFELD, L. u. AMSEL: Schw. med. Wschr. 70 801 1940

31. HIRSZFELD, L. u. SEIDEL: Zschr. Hyg. 104 465 1925
32. HIRSZFELD, L. u. H. ZBOROWSKI: Ergeb. Hyg. 15 54 1934
33. HIRSZFELD, L. u. H. ZBOROWSKI: Klin. Wschr. 4 1152 1925
34. HOLLÄNDER, L.: Anaesthesist 1 142 1952
35. HUMMEL, K.: Wien. klin. Wschr. 675 1950
36. JUNGWIRTH, J.: Blut 1 165 1955
37. KABAT, E. A.: Blood group subst. New York 1956
38. KEMP, T.: Akta path. mikrob. Skand. 7 146 1930
39. KIRIHARA, S.: Zschr. klin. Med. 19 522 1924
40. KIRK, R. u. G. VOSS: Vox sang. 2 422 1957
41. KÖRNER, W.: Inaug. Diss. Berlin 1962
42. KÖRNER, W. u. W. MAASSEN u. H. J. PETTENKOFFER:
Imm. Fsch. 123 473 1962
43. KÖRVER, G.: Klin. Wschr. 1036 1953
44. LANDSTEINER, K.: "Die Spezifität der serologischen
Reaktion" Springer Verlag Berlin 1933
45. LEDERBERG, J.: Science 129 1649 1961
46. LIEBERG, N.: Akta path. mikrob. Skand. 6 1 1929
47. LODENKÄMPER, H. u. G. STIENEN: Ärztl. Wschr. 8 110 1953
48. LOGHEM, V.: Rev. hämatol. 10 245 1955
49. MARESCH, W.: Ergebnisse der Blutgruppenforschung
KARGER Basel/New York 1960
50. MASKE, M. L.: Inaug. Diss. Berlin 1964
51. MATTHES, M. u. G. W. ORTH: "Leitfaden der Bluttransfusion"
Gustav Fischer Verlag Stuttgart 1955
52. MORVILLE, P.: Akta path. mikrob. Skand. 6 39 1929
53. NAUMANN, P. u. K. MAI: Med. Bild-Dienst ROCHE 1 17 1962
54. PETTENKOFFER, H. J., W. MAASSEN, R. BICKERICH:
Imm. Fsch. 119 415 1960
55. PIROFSKY, B.: Am. J. Clin. Path. 32 350 1959
56. PUNIN, W.: Imm. Fsch. 109 10 1952
57. RACE, R. R. u. R. SANGER: "Die Blutgruppen der Menschen"
Thieme Verlag Stuttgart 1958
58. RASCH, L. H.: "Lehrbuch der Blutgruppenkunde"
Verlag Walter de Gruyter Berlin 1954
59. SANDER, F.: Zentralbl. Bakt. 157 168 1951/52
60. SANDER, F.: Zentralbl. Bakt. 164 403 1955
61. SCHELLONG, G.: Klin. Wschr. 36 308 1958
62. SCHIFF, W. u. ADELSBERGER: Zentralbl. Bakt. 93 172 1924

63. SCHIFF, W. u. MENDLOWICZ: Imm.Fsch. 48 1 1926
64. SHAW, S.: Proc.6.Congr.Eurup.Soc.Haematol. Kopenhagen 1957 Karger Basel/New York
65. SPEISER, P.: Wien.klin.Wschr. 70 185 1958
66. SPEISER, P.: Wien.klin.Wschr. 71 129 1959
67. SPEISER, P., E.RIGE u. R.NEUHOLD: Imm.Fsch. 110 93 1953
68. SPIELMANN, W.: Imm.Fsch. 107 503 1950
69. SPIELMANN, W.: Imm.Fsch. 109 476 1952
70. SPIELMANN, W.: Arzneimittelfsch. 3 217 1953 Sonderdruck
71. SPIELMANN, W.: Zentralbl.Bakt. I.Orig. 164 384 1955
72. SPIELMANN, W.: Arbeiten aus d. P.-EHRlich-Inst. 52 48 1956
73. SPIELMANN, W.: Arzneimittelfsch. 7 144 1957 Sonderdruck
74. SPIELMANN, W.: Dtsch.med.Wschr. 83 2330 1959
75. THOMMSEN, O.: Hereditas (Lund) 13 121 1929/30
76. THOMMSEN, O. u. K.KETTEL: Imm.Fsch. 63 67 1929
77. WIENER, A.S.: J. of Imm. 66 287 1951
78. WIENER, A.S.: Proc.Soc.exp.Biol.Med.(Am)Vol. 56 173 1944
79. WILDFÜHR, G.: Imm.Fsch. 105 417 1944
80. WILDFÜHR, G.: Imm.Fsch. 108 211 1951
81. WILDHAGEN, K. u. E.KRAH: Klin.Wschr. 5 610 1952
82. WITEBSKY, E.: J.Exp.Med. 61 703 1935
83. WITEBSKY, E. u. L.M.ENGASSER: J.Imm. 60 597 1948
84. WITEBSKY, E. u. L.M.ENGASSER: J.Imm. 61 171 1949
85. YLIRUOKANEN, A.: Ann.Med.exp.Biol.Fenn. 26 6 1948
zit. n. P.L.MOLLISON: Blood Transf.Clin.Med.Oxford 1951
86. ZÖCKLER, H.: Med.Klin. 57 264 1962

Frau Professor Dr. med. L. Ballowitz möchte ich am
Schluß dieser Arbeit ganz herzlich für die Überlassung
des Themas, sowie für die stets freundliche Unter-
stützung und für die wertvollen Hinweise bei der Fertig-
stellung der Arbeit danken.

Lebenslauf

Am 25.5.32 wurde ich, Siegfried Karl Röhlig, als drittes Kind des Bäckermeisters Karl Röhlig und seiner Ehefrau Margarete geb. Homilius in Chemnitz geboren.

Die Grundschule besuchte ich in Chemnitz-Furth. Nach Absolvierung derselben erlernte ich das Stellmacherhandwerk und legte 1950 die Gehilfenprüfung ab.

Um das Abitur nachzuholen, besuchte ich von 1952 - 1956 das Kirchliche Oberseminar Potsdam-Hermannswerder. Nach wiederholter Ablehnung zum Medizinstudium, Immatrikulation an der Theologischen Fakultät der Universität Rostock im Herbst 1956. Der negative Bescheid auf meinen Antrag betreffs eines Fakultätwechsels zur Medizinischen Fakultät zwang mich, 1957 Mitteldeutschland zu verlassen, um im Wintersemester 1957/58 mit dem Studium der Medizin an der Freien Universität Berlin zu beginnen.

Im Sommersemester 1960 bestand ich das Physikum an der Freien Universität Berlin und studierte auch die folgenden klinischen Semester hier weiter. Im Frühjahr 1964 legte ich ebenfalls mein medizinisches Staatsexamen an dieser Universität ab.

